23e ANNÉE. N° 91. REVUE MYCOLOGIQUE JUILLET 1901.
EDITEUR : C. ROUMEGUÈRE, RUE RIQUET, 37, TOULOUSE.
RÉDACTEUR : Dr R. FERRY, AVENUE DE ROBACHE, 7, St-DIÉ (VOSGES).

De la fabrication de l'alcool de grain ou de maïs par l'emploi de l'Amylomyces Rouxii et du Mucor β (1).

I. — LES PRÉCURSEURS DE L'AMYLOMYCES.

Pasteur avait déjà reconnu que le *Mucor racemosus*, placé dans certaines conditions, a la propriété de décomposer le glucose en alcool et en acide carbonique. En effet, si on cultive ce mucor sur le moût de bière au contact d'un volume d'air considérable, il se développe en une couche mycélienne blanche sur laquelle apparaissent des filaments portant des organes de fructification. Vient-on, lorsque le mycélium s'est développé, à le disloquer par agitation et à l'introduire avec le liquide sous-jacent dans un vase privé d'air, on voit immédiatement la culture changer d'aspect : les filaments se divisent par des cloisons nombreuses en fragments quadrangulaires; ces fragments ne tardent pas à se renfler et à prendre une forme de plus en plus sphérique ; ils se séparent ensuite les uns des autres, deviennent libres dans le liquide, y bourgeonnent et produisent de l'alcool et de l'acide carbonique à la façon des levures.

Depuis cette célèbre expérience de Pasteur, on a reconnu chez un grand nombre de Mucédinées et de Mucorinées, la propriété de faire fermenter alcooliquement le sucre lorsqu'elles vivent immergées à l'abri de l'air. Tels sont les *Mucor alternans*, *M. circinelloïdes* et *M. spinosus* étudiés par M. Gayon ; l'*Aspergillus Oryzæ*, employé par les Japonais pour la fabrication de la bière de riz ; le *Chlamydomucor Oryzæ* étudié par M. Prinsen-Geerligs et employé à Java pour la fermentation des mélasses ; l'*Aspergillus Wentii* qui sert à préparer le Soja japonais ; l'*Eurotiopsis Gayoni* étudié par M. Laborde (2).

(1) FERNBACH. *L'Amylomyces Rouxii et son emploi en distillerie, procédé de MM. Collette et Boidin, de Seclin, près Lille.* (*Annales de la Brasserie et de la distillerie*, n° du 25 juillet 1898).

BOIDIN (A.). *Sur les mucédinées en distillerie (Procédé Collette et Boidin).* (Bulletin de l'Association des chimistes de sucrerie et de distillerie de France et des colonies 1900).

BOULLANGER. *L'emploi des Mucédinées en distillerie.* (Rev. gén. des sc. pures et appliquées, 1901, p. 689).

(2) *Annales de l'Institut Pasteur*, janvier 1897.

II. — L'*Amylomyces Rouxii* : découverte et étude de ses propriétés par le Dr Calmette

L'importance industrielle de ces moisissures serait à peu près nulle, si elles ne possédaient que la seule propriété que nous avons examinée jusqu'ici, celle de pouvoir produire la fermentation alcoolique, qu'elles partagent avec la levure. Elles en présentent une autre qui constitue leur caractère original : c'est le pouvoir de saccharifier l'amidon à l'aide de diastases spéciales, de telle sorte qu'introduites dans un milieu nutritif amylacé, elles transforment à elles seules l'amidon en alcool, en passant par le sucre, et peuvent ainsi remplir, sans autre intervention, le rôle que jouent séparément et successivement le malt et la levure. Leur utilisation dans l'industrie prend immédiatement, de ce fait, une importance énorme, et il est clair que, si l'une d'elles se montrait douée de propriétés saccharifiantes énergiques en même temps que de propriétés comburantes faibles, si de plus elle se montrait capable de supporter des doses d'alcool comparables à celles que supporte la levure, on pourrait immédiatement songer à l'employer dans la fermentation industrielle des matières amylacées.

C'est cette moisissure, réunissant tous ces desiderata, que le Dr Calmette, directeur de l'Institut Pasteur de Lille, a eu la bonne fortune et l'honneur de rencontrer et d'isoler dans la *levure chinoise*, en 1892, alors qu'il était directeur de l'Institut bactériologique de Saïgon.

« En Chine et en Indo-Chine, on fabrique diverses sortes de vins et d'eaux-de-vie de riz à l'aide d'un ferment spécial que l'on a confondu à tort avec le *kôji* japonais dans les rares travaux où il en est fait mention. Ce ferment, constitué par la symbiose d'une moisissure et de plusieurs variétés de levures alcooliques, saccharifie l'amidon cuit avec une très grande énergie. Sa fabrication est le monopole d'un petit nombre d'industriels chinois : les distillateurs indigènes ignorent absolument la manière de le préparer. Les Européens le désignent sous le nom de *levure chinoise*.

« On le trouve dans le commerce sous la forme de petits gâteaux aplatis, à peu près du diamètre d'une pièce de 5 francs, présentant une surface granuleuse de couleur grisâtre. Leur base est incrustée de fragments de balle de riz. »

Cette levure est préparée en mélangeant d'abord des plantes aromatiques, dont le rôle, comme on le verra, est uniquement de parfumer l'alcool qu'elle fournit.

« Une fabrique de levure chinoise comporte un outillage des plus simples : des étagères, des nattes, des tamis, un grand mor-

tier de granit et une espèce d'auge circulaire, également en granit, dans laquelle un bœuf promène lentement une lourde roue.

« Les quarante-six plantes aromatiques sont d'abord pilées ensemble très finement au mortier, puis passées au tamis. La poudre obtenue, dont l'odeur est très pénétrante et très agréable, est versée dans l'auge circulaire avec parties égales de farine de riz. La roue, passant et repassant un grand nombre de fois sur le mélange, le rend homogène. On le porte alors dans une terrine, où il est malaxé avec de l'eau jusqu'à consistance de pâte molle. On coule ensuite cette pâte en petits pains qu'on dispose en quinconces sur des nattes couvertes d'une mince couche de balle de riz humectée d'eau.

« Les nattes sont échelonnées sur des étagères couvertes de paillassons, dans une pièce obscure. Au bout de quarante-huit heures, à la température moyenne de 30° qu'il fait à Saïgon, le développement des germes est achevé : la pâte, restée humide, a pris une odeur de moisi et s'est couverte d'une sorte de velours blanc très fin. On l'expose au soleil jusqu'à dessiccation complète, et on la met en sacs pour la vendre aux distillateurs...

« Pour traiter 100 kilogrammes de riz, il faut environ 1 kilogr., 500 de levure chinoise, et les distillateurs obtiennent, avec cette quantité, 60 litres environ d'eau-de-vie à 36°, soit un rendement moyen de 18 litres d'alcool pur.

« Le riz, décortiqué à l'aide de grossières meules en bois, est d'abord mélangé dans une chaudière de cuisson avec un peu plus de son poids d'eau chaude. On arrête la cuisson lorsque le grain s'écrase facilement entre les doigts ; on l'étale alors en couche mince sur des nattes pour le laisser refroidir, et on le saupoudre de levure pilée au mortier. Ensuite on le répartit dans des pots de terre, de 20 litres environ de capacité, mais en ne les remplissant qu'à moitié, et on les ferme avec un couvercle. Au bout de trois jours, la saccharification de l'amidon est achevée ; on opère le remplissage des pots avec de l'eau du fleuve, et on les laisse découverts. La fermentation alcoolique s'établit rapidement et dure deux jours, au bout desquels on distille toute la masse, à feu nu, dans des alambics en tôle. »

Voilà le mode de préparation de la levure chinoise, et son mode d'emploi dans la fabrication de l'alcool. Quel est l'agent actif de cette levure ?

Le Dr Calmette reconnut que c'était une Mucorinée à laquelle il donna le nom d'*Amylomyces Rouxii*.

« Ses milieux de prédilection sont le moût de bière liquide ou solidifié par la gélatine ou la gélose, et surtout les substances amylacées cuites à la vapeur. Noyée dans le moût de bière, elle se

développe en masses floconneuses et produit une petite quantité d'alcool : 2,4 p. 100 environ en six jours. Si on la laisse se développer seulement en surface, elle brûle directement le maltose du moût sans produire d'alcool.

« Sur le riz cuit ou sur les fécules hydratées par la chaleur humide, elle étale son mycélium aérien et transforme partiellement en sucre la couche d'amidon sous-jacente, mais le sucre formé est aussitôt utilisé pour l'alimentation de la moisissure, tant qu'elle continue à s'accroître au contact de l'air. Si, au contraire, on l'oblige à se développer en profondeur dans la substance amylacée, à l'abri de l'air, elle hydrate l'amidon avec une très grande énergie et produit de la dextrine et du sucre fermentescible.

« On peut étudier avec facilité son développement, soit en l'ensemençant en goutte suspendue dans du moût de bière, soit en emprisonnant un rameau mycélien dans de la gélose glucosée, en chambre humide de Ranvier.

« Au contact de l'air, sur les bords de la gouttelette suspendue, le tube mycélien s'allonge peu, et se divise bientôt par des cloisons transversales au niveau desquelles le protoplasma, très réfringent, s'amasse pour former des chlamydospores. Au début, celles-ci ont une forme cubique, puis elles s'arrondissent, mais ne s'isolent pas du rameau qui les a fait naître et qui se prolonge au-dessus d'elles pour former un peu plus loin une ou plusieurs autres chlamydospores semblables.

« Dans les cultures profondes en moût gélatiné, partout où le mycélium échappe au contact direct de l'air, il s'accroît par bourgeonnement direct, étalant en tous sens ses ramifications tubuleuses, dans l'intérieur desquelles on peut facilement suivre, à un grossissement de 150 diamètres, la progression du protoplasma, mais aucune chlamydospore n'apparaît.

« Noyée dans un liquide sucré, dextriné ou amylacé, la plante ne produit pas de cellules ovales ou sphériques en forme de levures, comme le *Mucor racemosus* ou le *Mucor alternans*. Elle se développe exclusivement en mycélium rameux. »

L'importance capitale du travail que nous venons d'analyser n'échappera à personne. On y trouve encore l'explication de la faiblesse du rendement en alcool obtenu par les distillateurs chinois, dont le travail est imparfait, et dont la levure apporte en outre, par suite de son mode même de préparation, nombre d'organismes inutiles ou nuisibles. En opérant, en effet, dans des conditions de pureté absolue, avec l'*Amylomyces* et une levure de *pale ale*, sur 1 kilogramme de riz, le Dr Calmette a pu obtenir un rendement de 40,9 d'alcool pour 100 parties d'amidon.

Cette constatation contient en germe tout le procédé que nous aurons à examiner tout à l'heure.

III. — EMPLOI INDUSTRIEL DE L'AMYLOMYCES A LA FABRICATION DE L'ALCOOL DE GRAIN OU DE MAÏS (Procédé de MM. Colette et Boidin, de Seclin, près Lille).

Aujourd'hui, la fabrication de l'alcool de grain de maïs se fait généralement de la façon suivante :

Le grain, cuit sous pression, est traité dans une cuve-matière par une quantité de malt suffisante pour produire une saccharification de l'amidon aussi complète que possible. Cette quantité de malt atteint 10 à 15 0/0 du poids du grain employé. A cet emploi de malt correspond déjà une perte minima de 1 k. 400 d'amidon par suite du maltage, soit un litre d'alcool par 100 kilos de grains. La saccharification par le malt donne d'abord : d'une part, du maltose qui fermente sous l'action de la levure et, d'autre part, de la dextrine qui n'est fermentescible que dans une proportion très réduite, variable d'ailleurs avec l'espèce de levure employée. La dextrine restante occasionnerait une perte considérable de rendement. Pour réduire cette perte au minimum, on utilise la propriété que possède la diastase du malt de continuer à agir sur la dextrine quand la saccharification principale est terminée, et de la transformer en sucre qui subit alors la fermentation alcoolique. Il importe donc de ne pas détruire cette diastase, qui doit produire la saccharification complémentaire. Il en résulte un inconvénient des plus graves : l'impossibilité d'opérer aseptiquement et de stériliser le moût, la diastase étant détruite à 70-75°, température à laquelle résistent beaucoup d'espèces microbiennes.

Pour lutter autant que possible contre les ferments nuisibles, le distillateur augmente l'acidité du moût en faisant des levains lactiques. Cette préparation des levains lactiques, très délicate, est un mal nécessaire, qui cause à l'industriel des déboires continuels ; car le succès ultérieur d'une fermentation dépend en grande partie de la qualité du levain. En outre, le sucre qui se transforme en acide lactique est perdu. Enfin l'acidification, avec tous ses défauts, n'est même pas un moyen suffisant pour combattre l'infection par les mauvais ferments ; ceux-ci s'habituent à la réaction acide du milieu, prennent bientôt le dessus, et engagent avec la levure une lutte pour l'existence qui se traduit par une chute importante du rendement en alcool.

On comprend dès lors l'intérêt qu'il y aurait à opérer la saccharification au moyen d'une Mucédinée qu'on puisse ensemencer à l'état pur dans un moût stérilisé. La Mucédinée produisant de la diastase, il deviendrait inutile de saccharifier totalement l'amidon. On pourrait donc réduire beaucoup la proportion de malt. En

outre le moût serait stérilisable, puisque l'action complémentaire de la diastase serait produite par la Mucédinée ensemencée dans le moût stérile. Donc : suppression au moins partielle du malt, suppression des levains lactiques, possibilité d'un travail aseptique et d'un contrôle scientifique rigoureux, tels sont les avantages de la saccharification par les Mucédinées.

L'*Amylomyces Rouxii* est apte à produire cette saccharification indépendamment du pouvoir qu'il possède (à l'instar de la levure) d'intervertir certains sucres (maltose, etc.) et de dédoubler le glucose en alcool et acide carbonique.

Toutefois, quoique l'*Amylomyces*, remplisse ainsi à la fois les fonctions du malt et de la levure, il est cependant utile, pour que la transformation s'accomplisse d'une façon rapide et tout à fait complète, d'ajouter (à certaines phases des opérations) une petite quantité de malt et une faible proportion de levure.

Nous allons exposer les opérations successives ayant trait à la préparation du moût, à sa stérilisation, à son ensemencement et à sa fermentation.

Préparation du moût. — Le maïs entier est introduit dans des cuiseurs à haute pression avec deux fois son poids d'eau ; on chauffe de manière à élever progressivement la pression jusqu'à 3 atmosphères 1|2 à 4 atmosphères, la durée totale de l'opération étant de trois heures. Au bout de ce temps, la masse, dans laquelle tout l'amidon est gélatinisé, est lancée dans une cuve-matière renfermant à l'avance du malt vert broyé et de l'eau froide en quantité telle que la température finale du mélange ne dépasse pas 70° C. La quantité de malt vert employée, évaluée en malt sec, ne représente pas plus de *un pour cent* du poids du maïs, proportion largement suffisante pour produire la liquéfaction de l'amidon, ce qui est le seul but à atteindre dans la cuve-matière. Le séjour de la masse dans cette cuve est d'une heure environ.

Stérilisation du moût. — De la cuve-matière, le moût passe dans un stérilisateur, sorte d'immense autoclave dans lequel il est chauffé jusqu'à 120°, c'est-à-dire à une pression de 2 atmosphères, qui, on le sait, est suffisante pour tuer sûrement tous les germes qu'il peut renfermer. Du stérilisateur, le moût passe dans la cuve de fermentation.

Cuves de fermentation. — La cuve de fermentation représente l'un des points les plus originaux et les plus frappants du procédé que nous étudions. Tous ceux qui ont visité l'usine de Seclin, quelque rompus qu'ils fussent aux merveilles réalisées dans la construction des appareils industriels, ou quelque habitude qu'ils eussent des travaux d'un laboratoire de bactériologie, n'ont pu se défendre d'un sentiment d'étonnement profond, voisin de la stupeur, en voyant la cuverie, avec ses cinq cuves d'une capacité de

1.000 hectolitres chacune, cuves aseptiques, absolument closes, dans lesquelles les opérations d'ensemencement et de culture se pratiquent avec la même sécurité que dans un petit ballon de nos laboratoires.

La hauteur totale d'une cuve est de 6 mètres.

Chaque cuve est en communication, par un tuyau s'ouvrant dans son dôme, avec le stérilisateur. Elle porte, à sa partie inférieure, un tube de sortie pour le moût et, à sa partie supérieure, un tube de sortie pour l'acide carbonique ; ce dernier tube va s'ouvrir dans une cuve cylindrique de 4 hectolitres environ, remplie d'eau dans laquelle l'acide carbonique barbote avant de s'échapper à l'extérieur. Un trou d'homme placé à la partie inférieure de la cuve permet de la nettoyer facilement lorsqu'elle est vide. Un regard vitré permet l'observation du niveau du liquide.

La cuve porte dans son intérieur un agitateur dont l'arbre passe dans un calfat aménagé de telle sorte que toute entrée d'air extérieur impur soit impossible. Un thermomètre indique la température intérieure ; deux orifices, placés l'un sur le dôme, l'autre latéralement, permettent d'ensemencer et de prélever des échantillons de liquide. Enfin, point essentiel, la cuve porte un tuyau d'injection de vapeur et un tuyau pour l'injection d'air qui, cela va sans dire, est débarrassé de tous ses germes par passage au travers d'un filtre à coton stérile. Toutes les précautions ont été prises pour qu'à aucun moment il ne puisse y avoir contamination par de l'air ou du liquide non stérile, venus de l'extérieur. On a supprimé, partout où on a pu, l'emploi des robinets, qui, lorsqu'ils atteignent certaines dimensions, ne sauraient être étanches, quand ils doivent subir les alternatives de températures élevées et basses ; en chaque point où le placement d'un robinet s'est trouvé indispensable, on s'est arrangé pour que les fuites se produisent toujours de l'intérieur vers l'extérieur.

Le moût sortant du stérilisateur arrive dans la cuve de fermentation, dans laquelle il monte sous l'effet de la pression qui existe dans le stérilisateur ; la cuve doit donc être remplie par des charges successives de moût stérilisé. De plus, il faut que ce moût stérilisé arrive dans une cuve stérile. Voici comment on procède à cet effet : les premières charges de moût stérile et chaud qui arrivent dans la cuve ont été additionnées avant stérilisation d'acide sulfurique ou chlorhydrique ; dès que la première charge est dans la cuve, on y injecte un courant de vapeur de manière à la maintenir en ébullition lente, et cette ébullition du moût de la cuve est continuée sans interruption jusqu'à ce que celle-ci soit complètement remplie.

Pendant l'ébullition des premières charges, la vapeur condensée sur les parois de la cuve entraîne avec elle les germes qui pour-

raient se trouver sur ces parois; ces germes arrivent dans un liquide acide bouillant et sont détruits. La vapeur qui se dégage en courant lent par l'orifice supérieur de la cuve, empêche en outre, jusqu'à ce que le remplissage soit achevé, toute rentrée de germes provenant de l'air extérieur.

L'acide ajouté aux premières charges serait gênant pour le fonctionnement ultérieur de l'*Amylomyces* qu'on introduira dans la cuve. Il résulte, en effet, des recherches de M. Boidin, que la formation de la diastase saccharifiante et son action sont gênées par l'acidité du milieu. Il est donc indispensable que le milieu soit voisin de la neutralité. Or il se trouve qu'à Seclin on a affaire à des eaux calcaires, et la quantité d'acide ajoutée aux premières charges de moût est si minime qu'elle se trouve neutralisée par le calcaire apporté par les charges suivantes.

Voilà donc la cuve pleine de moût en ébullition. On la ferme complètement, on cesse l'injection de vapeur et on la remplace par une introduction d'air stérile destiné à combler le vide produit par la condensation et à maintenir même, comme nous l'avons dit plus haut, un léger excès de pression dans l'intérieur de la cuve. On procède alors au refroidissement du moût en faisant ruisseler sur les parois cylindriques de la cuve un courant d'eau amené en minces filets par un tuyau perforé qui entoure le haut de la cuve immédiatement au-dessous du dôme. Le refroidissement est produit non seulement par la différence de température entre l'eau réfrigérante et la cuve, mais aussi, principalement au début, par l'évaporation dont cette immense nappe d'eau devient le siège, si bien que cinq heures suffisent à amener à 38° C. la température des 1.000 hectolitres de liquide, contenant les produits de transformation de 10.000 kilogrammes de maïs (1).

Ensemencement et fermentation.— Cette température de 38° C. est la plus favorable au développement de la *mucédinée saccharifiante*. L'ensemencement se pratique par la tubulure supérieure de la cuve, celle qui est portée par le dôme, en employant exactement les mêmes précautions d'asepsie qu'on emploie dans le laboratoire pour tout ensemencement. La quantité de moisissure qu'il est nécessaire d'introduire dans la cuve est minime, si on considère son poids : on ensemence les spores formées sur une centaine de grammes de matière amylacée cuite, riz ou fragments de pain, mises en suspension dans quelques centaines de centimètres cubes de moût stérile. Les spores s'y trouvent en quantité innombrable, mais ne représentent certainement pas un poids d'un décigramme.

(1) Des expériences récentes ont montré que l'on pouvait arriver aussi facilement à des chargements de 14.000, 16.000 et même 18.000 kilogrammes de maïs. Il est probable que cette concentration des moûts pourra même être augmentée ultérieurement.

Dès que l'ensemencement est fait, on injecte doucement de l'air dans la cuve en mettant en mouvement l'agitateur. L'agitation a pour effet, non seulement de rendre la température uniforme dans toute la masse, mais aussi — point essentiel — d'empêcher le mycélium de la moisissure de former un feutrage à la surface du liquide, car ce développement superficiel aurait pour conséquence de permettre à la moisissure d'exercer ses propriétés comburantes, et donnerait lieu à une perte d'amidon.

Au bout de 20 heures, il est impossible de rencontrer, à l'examen microscopique, un seul champ qui ne renferme pas plusieurs filaments mycéliens. Le travail de saccharification est commencé, et la quantité de diastase produite est suffisante pour le mener à bien. On pourrait laisser la culture se continuer dans les mêmes conditions : en vertu de son pouvoir ferment, la moisissure transformerait le sucre en alcool et acide carbonique au fur et à mesure que ce sucre apparaît dans le liquide.

Mais l'expérience a appris que, lorsqu'on laisse la mucédinée faire tout le travail, l'opération dure longtemps avant d'être achevée, et il y a à son exécution rapide un avantage sur lequel il est inutile d'insister. C'est pourquoi on refroidit la cuve jusqu'à la température de 33° C., on cesse d'y injecter de l'air, et on y introduit, avec les précautions d'usage, une semence de levure *pure*, quelques centimètres cubes d'une culture faite dans un petit ballon de verre. Nous retrouvons là la symbiose que le Dr Calmette avait constatée dans l'action de la levure chinoise. La levure fait fermenter le sucre à mesure qu'il est produit par la mucédinée. Trois jours après le moment où on a introduit la levure, la fermentation est terminée ; la cuve ne renferme plus trace d'amidon et peut être distillée.

Si l'on examine, au moyen de la teinture d'iode, la coloration donnée par le moût aux divers stades du travail, on constate qu'avant l'ensemencement de l'*Amylomyces* il y a une quantité considérable d'amidon en solution et en suspension. On en trouve encore en forte proportion au moment où l'on ensemence la levure ; puis sa quantité va en diminuant de plus en plus, et à la fin de la fermentation l'iode ne donne plus aucune coloration, et on ne trouve plus, au microscope, aucune trace d'amidon. En même temps, le sucre réducteur, dont la proportion a été en augmentant pendant le premier stade de la fermentation, alors que la levure n'avait pas encore subi un développement complet, décroît rapidement, et sa quantité tombe à zéro deux jours après l'ensemencement de la levure.

Telle est la pratique du travail par l'*Amylomyces*. Il représente, ainsi que nous l'avons dit, l'application directe de la technique de laboratoire aux opérations industrielles, et par ce fait seul il offre

tous les avantages d'une expérience scientifiquement conduite. Toute culture de microorganismes faite dans le laboratoire doit permettre un contrôle scientifique rigoureux : le contrôle bactériologique se retrouve également dans l'usine.

Que doit-on faire dans le laboratoire si l'on veut être assuré d'obtenir une culture rigoureusement pure ? Après avoir stérilisé le liquide de culture, il faut s'assurer qu'il est réellement stérile en en exposant une portion à une température favorable à son altération. C'est ce qu'on fait à Seclin pour chaque cuve : on recueille, après stérilisation, une petite portion de moût dans des tubes stériles, qu'on place à l'étuve ; ces tubes doivent rester et restent inaltérés. Lorsqu'on s'est assuré que le liquide de culture est bien stérile, il faut aussi être sûr que la semence qu'on va y introduire provient d'une culture pure, c'est-à-dire ne renferme qu'un seul organisme, celui qu'on veut cultiver. Ce contrôle a lieu aussi à Seclin. On y pratique l'examen microscopique de chaque semence, et l'examen de ce qu'elle donne par culture quand on l'introduit dans du moût stérile. Ces examens, pour une fabrication de 100 hectolitres par jour, n'exigent que dix minutes de travail.

Il suit de ce contrôle que, si une faute est commise à une phase quelconque des opérations de stérilisation et d'ensemencement, on en retrouvera la trace dans les tubes qui ont servi à ce contrôle, et on saura à qui incombe la responsabilité de la faute commise ; s'il y a quelque chose de défectueux dans un appareil, on saura immédiatement où il faut chercher pour y remédier. Nous devons, en effet, constater que, depuis le 29 mars 1898, date à laquelle les grandes cuves de 1.000 hectolitres ont été mises en route à Seclin jusqu'à ce jour, aucune infection des moûts n'a été constatée.

On voit donc, par ce qui précède, que les avantages mis en avant par les inventeurs du procédé sont parfaitement justifiés. La quantité de malt à employer est minime, et la quantité de levure négligeable La possibilité de réaliser une stérilisation absolue du moût et d'y introduire des organismes déterminés, qu'on peut à tout instant soumettre à un contrôle bactériologique rigoureux, n'est pas moins réelle.

IV. — Nouvelles espèces préférables a l'Amylomyces Rouxii au point de vue industriel.

L'*Amylomyces Rouxii*, employé pour le procédé Amylo, avait l'inconvénient fort grave d'exiger l'emploi de moûts très dilués ne contenant pas plus de 4 1/2 pour 100 d'alcool. L'*Amylomyces Rouxii* ne possède pas, en effet, des propriétés saccharifiantes assez énergiques pour conduire à une bonne atténuation dans des moûts concentrés. Il en résultait une augmentation notable des

frais généraux de fabrication. Aussi M. Boidin ne tarda pas à entreprendre l'étude de diverses autres Mucédinées saccharifiantes dont les propriétés pouvaient être plus actives. Pour la distillerie, la meilleure espèce était évidemment celle qui poussait le plus loin l'atténuation, en donnant l'acidité la plus faible.

M. Boidin a isolé ainsi, sur un échantillon de koji japonais, un mucor qu'il a désigné sous le nom de *Mucor β*. Ce *Mucor β* se montra supérieur à l'*Amylomyces Rouxii;* la saccharification était plus complète; les moûts fermentés étaient moins acides et contenaient moins de dextrine que ceux fournis par l'*Amylomyces*. Il permet de travailler dans des moûts contenant 18 à 25 pour 100 de grains, soit 10 pour 100 d'alcool. On voit donc que ce mucor ne laisse rien à désirer au point de vue de la concentration, et c'est avec lui que l'usine de Séclin fonctionne depuis le mois de juin 1898.

Au point de vue de l'ensemencement, ce mucor diffère complètement de l'*Amylomyces Rouxii*. Il ne possède pas, comme ce dernier, des tubes mycéliens qui se dissocient en oïdiums capables chacun de reproduire la plante. Il est donc nécessaire d'ensemencer les spores : de cette façon il est facile d'obtenir sous un poids très faible un nombre considérable de plantes pour envahir rapidement le moût.

M. Boidin a aussi reconnu que les spores peuvent pousser dans un milieu privé d'oxygène, par exemple sur un moût stérile recouvert d'une couche d'huile de vaseline.

Du reste ce *Mucor β* doit être utilisé exactement avec les mêmes procédés que l'*Amylomyces Rouxii*.

M. Boidin (d'après les renseignements que lui-même a bien voulu nous communiquer) a encore découvert un autre mucor, le *Mucor γ*. Ce dernier a une action saccharifiante encore plus rapide que le *Mucor β*. De plus, il ne donne qu'une acidité de 0,70 par litre à la fin de la fermentation dans des moûts à 18 kilog. de grain par hectolitre. Mais il n'est pas employé à cause de la difficulté qu'on éprouve à en obtenir des cultures bien sporulées. Le *Mucor β* donne, au contraire, des spores très facilement.

M. Boidin a reconnu aussi des propriétés saccharifiantes énergiques chez le *Mucor alternans* et le *Mucor racemosus*.

Nous terminerons en résumant les principaux avantages que présente le procédé amylo auquel on emploie actuellement le *Mucor β*.

Voici les principaux avantages du procédé Amylo.

1° La dépense en malt est considérablement réduite puisqu'on n'emploie que 2 °/₀ de malt au lieu de 15 à 25 °/₀;

2° Le travail si délicat et si aléatoire de la fabrication de la levure (levains lactiques) est remplacé par le travail précis et rigou-

reux du laboratoire où l'on prépare les cultures pures qui serviront à ensemencer les cuves;

3° Le rendement en alcool est supérieur : 100 kilos de grain de maïs rendent 38 hectolitres, au lieu de 34 qui est le maximum que l'on puisse obtenir par l'ancien procédé;

4° La quantité d'alcool bon goût est supérieure (80 litres sur 100, au lieu de 73);

5° Les tourteaux de drèche s'obtiennent très facilement, sans obstruction des filtres parce que la fermentation des dextrines est complète.

6° Le procédé Amylo permet de tirer profit des énormes quantités d'acide carbonique qui s'échappent des cuves. Le gaz carbonique peut être comprimé dans des cylindres pour être vendu à l'état liquide.

Procédé Amylo perfectionné par l'emploi des acides (substitués au malt) pour la saccharification

Par MM. Colette et Boidin

MM. Colette et Boidin employaient, à l'origine comme nous venons de le voir dans l'article précédent, le malt pour venir en aide à la diastase du *Mucor* et obtenir une saccharification plus rapide et plus complète de l'amidon.

Actuellement, ils ont recours pour saccharifier l'amidon à l'emploi de l'acide chlorhydrique.

1° La *cuisson* se fait comme dans le procédé que nous avons décrit dans l'article précédent; il n'existe que cette seule différence, c'est que, lorsque l'empois est formé, l'on ajoute dans le cuiseur une petite quantité d'acide (environ un demi-litre d'acide chlorhydrique pour 100 kilos de grains). Cet acide opère un commencement de liquéfaction de l'amidon et produit 3 ou 4 kilos de glucose par 100 kilos de grains. Quand on juge que la cuisson est suffisante, on procède à la vidange du cuiseur.

2° Le *chargement de la cuve* se fait en vidant directement le contenu du cuiseur dans la cuve de fermentation, laquelle se trouve par le fait même stérilisée sans aucune dépense de chaleur. Quand on a rempli la cuve, on sature l'acide libre par quelques kilos de carbonate de chaux ou de soude et l'on fait passer pendant quelques minutes de la vapeur dans les tuyauteries pour les stériliser. On ferme la cuve, on la refroidit en aérant le moût avec de l'air pur.

3° On procède alors à l'*ensemencement* de la cuve.

Au bout de 24 à 30 heures, la mucédinée a saccharifié une grande partie de l'amidon. On ajoute alors la levure pure qui

assure la fermentation. Celle-ci se poursuit jusqu'à ce que tout l'amidon soit tranformé. La fermentation finie, il ne reste plus qu'à procéder à la distillation.

Voici les avantages de cette nouvelle méthode :

En supprimant le malt, on échappe aux difficultés que suscite sa préparation.

La désinfection des cuves se produit par l'acidité même du milieu, sans qu'il soit nécessaire, pour l'obtenir, d'une opération spéciale.

Il y a économie d'outillage, de main d'œuvre et de combustible.

Enfin, l'on arrive (ce qui ne peut être obtenu par d'autres procédés) à la saccharification complète des dextrines et par suite à un rendement industriel très voisin (97 p. 100) du rendement théorique déduit de la formule de Pasteur. *R. Ferry.*

Etudes de M. Roland Thaxter sur les Saprolégniées (Pythiacées et Leptomitacées)

ainsi que sur les Monoblépharidées

(Analyse de M. Matruchot) (1).

SAPROLÉGNIÉES. — Schröter (2) a divisé les Saprolégniées en trois sections : 1° Les *Saprolégniées* proprement dites ; 2° les *Leptomitacées* et 3° les *Pythiées*.

Les récentes recherches de M. Thaxter portent sur des plantes appartenant à ces deux dernières sections.

PYTHIACÉES

C'est aux Pythiacées que M. Thaxter rattache le genre *Blastocladia* (3), champignons aquatiques assez communs.

L'axe est ramifié en dichotomie irrégulière ou en subombelle : les extrémités des rameaux se renflent et portent deux sortes d'organes reproducteurs :

1° Des *zoosporanges* (pl. CCXVI, fig. 1). — Les zoospores sont munies de deux cils (fig. 4) et plus rarement d'un seul cil : elles possèdent un noyau subtriangulaire en relation avec les cils ;

(1) Matruchot. *Revue générale de botanique*, 1899, p. 359. (Nous avons ajouté un certain nombre de planches, ainsi que les explications qui les concernent).

(2) Schröter. *Pflanzenfamilien*, I, p. 96.

(3) Thaxter. *New or peculiar aquatic fungi*, *Blastocladia* (Bot. Gaz., 1896, p. 45).

2° Des *conidies* (fig. 2) : ce sont de gros éléments sphériques ou ovoïdes à paroi épaissie et double, comprenant une exospore lisse et mince, et une endospore épaisse (fig. 3 et 5-6). Ces conidies apparaissent après les sporanges et leur correspondent morphologiquement. M. Thaxter toutefois ne les a pas vues germer.

Le champignon est totalement asexué en apparence. D'ailleurs, s'il y avait des anthérozoïdes, ils ne pourraient remplir leur rôle ; car le champignon vit toujours au milieu d'une colonie de bactéries qui empêcheraient l'accès de l'oogone (s'il en existait un) à tout corps mobile à l'aide de cils. Ces caractères assignent donc au *Blastocladia* une place à part parmi les champignons aquatiques.

Blastocladia Pringsheimii. (Voir planche CCXVI, fig. 1-6 et se reporter ci-après, page 99, à l'explication de la planche).

LEPTOMITACÉES

Genre *Sapromyces*.

M. Thaxter (1) a retrouvé une espèce du genre *Nägelia* signalée autrefois par Reimsch. Elle s'était développée sur un cône immergé de Pin. La plante est dioïque : les zoosporanges (pl. CCXVII, fig. 19) sont accompagnés d'anthéridies allongées, spiralées, parfois comprimées ou ramifiées, qui viennent s'appliquer sur des oogones piriformes, à incrustations brunes et à stries transversales. Entre la cellule qui constitue l'oogone et la cellule contiguë du mycélium, il existe un étranglement rempli par un bouchon de celluline (fig. 19).

Cette espèce, d'après M. Thaxter, appartient à un genre nouveau, qu'il nomme *Sapromyces*, différant du genre *Rhipidium* Cornu, en ce que l'oospore est lisse, en ce que la fécondation de l'oogone est terminale (et non basale), en ce que les anthéridies présentent un tour de spire et en ce que la ramification de la plante totale est souvent une ombelle composée.

Au genre *Sapromyces* ainsi défini se rapportent en outre le *Rhipidium elongatum* Cornu (= *S. elongatus*) et une espèce nouvelle, *S. androgynus*, dont M. Thaxter a suivi avec détail le développement.

La figure 16 montre la disposition des zoosporanges et la figure 17 la forme de trois sporanges.

La figure 20 représente un stade de la fécondation ; on y reconnait l'anthéridie, cylindrique et à filet enroulé en spirale, dont

(1) Thaxter. *Observations on the genus Naegelia of Reinsch* (Bot. Gaz., 1894, p. 49). — *New or peculiar aquatic fungi : Rhipidium, Sapromyces and Araiospora* (Bot. Gaz. 1896, p. 317).

l'extrémité s'applique sur le sommet de l'oogone et repousse la paroi en formant comme une indentation.

Sapromyces androgynus. (Voir planche CCXVIII, fig. 25-27).

Genre *Rhipidium*

Le genre *Rhipidium* (au sens restreint que lui donne M. Thaxter) comprend actuellement deux des espèces types de M. Cornu (*R. interruptum* et *R. continuum*) et en outre une espèce nouvelle qu'étudie M. Thaxter (*R. Americanum*). Il est caractérisé : 1° par la grande différence de taille qui s'observe entre la cellule basale et les filaments qu'elle porte ; 2° par des filaments fructifiés, ramifiés en sympode au-dessous de zoosporanges généralement solitaires et ovales ; 3° par la déhiscence des sporanges ; 4° par un oogone sphérique *perforé à sa base* ; 5° par le pollinide venu de l'anthéridie.

Les figures ci-jointes résument le développement du *Rh. Americanum*. Les zoosporanges solitaires renferment un petit nombre de zoospores (pl. CCXVI, fig. 9) ; la déhiscence du sporange et la sortie des spores offrent une particularité très spéciale : la papille du sommet du sporange est soulevée par la masse de spores encore englobée dans la membrane interne du sporange (fig. 10 et 11). Puis cette enveloppe se brise et il en sort des zoospores réniformes à deux cils et à larges granules réfringents qui les font reconnaître facilement (fig. 12 et 13).

Rhipidium Americanum Thaxter. (Voir planche CCXVI, fig. 7-13 et planche CCXVII, fig. 14 et 24).

Genre *Araiospora*

Le genre *Araiospora* est créé par M. Thaxter pour une forme qui est intermédiaire entre les *Rhipidium* et les *Sapromyces*. Ce genre s'éloigne de *Sapromyces* et se rapproche de *Rhipidium* par sa cellule basale très large, mais diffère de ce dernier en ce que cet article basal n'est qu'une simple modification d'un segment d'une des branches. La ramification et la disposition des sporanges sont celles des *Sapromyces*, mais d'une part l'oogone sphérique sans incrustations à abondant protoplasma pariétal, d'autres part les caractères de l'anthéridie, et enfin la fécondation basale de l'oogone, sans indentation les rapprochent des *Rhipidium*.

Mais le genre *Araiospora* diffère des deux autres genres, d'abord par l'existence de deux sortes de sporanges ; les uns semblables à ceux des *Sapromyces*, les autres disposés en subombelles et munis d'épines proéminentes bien caractéristiques (pl. CCXVII, fig. 23). De plus les œufs d'*Araiospora pulchra* n'ont pas d'analogue dans toute la série des Saprolégniées et même des Oomycètes, car chacun d'eux est entouré d'une assise de cel-

lules provenant du cloisonnement du protoplasma périphérique (pl. CCXVII, fig. 15). Les filets anthéridiques naissent sur des articles spéciaux qui dérivent du segment que porte l'oogone à féconder ; ces filets croissent vers le bas et souvent se ramifient : dans ce cas chaque branche est terminée par une anthéridie.

M. Thaxter rattache à ce nouveau genre *Araiospora* le *Rhipidium spinosum* Cornu, car les sporanges peuvent aussi s'y montrer comme de forme ovale, munis d'épines et disposés en subombelles ; mais ce rattachement n'est pas certain.

Araiospora pulchra Thaxter. (Voir planche CCXVII, fig. 15, 22 et 23).

Genre *Gonapodya*

Le genre *Gonapodya* a été créé par Fischer (in *Rabenhorst's Krypt. Flora*) pour le *Saprolegnia siliquaeformis* de Reinsch et le *Monoblepharis prolifera* Cornu, que l'auteur allemand considère comme identiques. Sous le nom de *Gonapodya prolifera*, il le place dans la famille des Monoblépharidées. M. Thaxter (1) a retrouvé en Amérique deux espèces du même genre :

1° *G. siliquaeformis*, qu'il homologue à la plante de Reinsch, mais qu'il croit différente de celle de Cornu ; 2° *G. polymorpha*, n. sp.

Pour M. Thaxter, ce genre *Gonapodya* doit être retiré de la famille des Monoblépharidées et rattaché, mais avec doute, à la famille des Leptomitacées, dont il se rapproche par son mycélium à constrictions successives, déterminant des segments séparés par des tampons de celluline.

Dans le *G. polymorpha* Thaxter (pl. CCXVIII, fig. 31-33) les anneaux de celluline ne sont pas en relation avec des constrictions. Les zoosporanges sont généralement prolifères quand le champignon se développe dans de mauvaises conditions, au milieu des bactéries ou d'autres organismes. Les zoospores sont transparentes, avec un gros noyau sphérique, en face duquel est une masse granulaire caractéristique.

Gonapodya polymorpha Thaxter. (Voir planche CCXVIII, fig. 31-33).

Conclusions de M. Thaxter sur la réorganisation de la famille des Leptomitacées

Une conséquence de ces belles recherches de M. Thaxter sur les Saprolégniées est la réorganisation complète de la famille des Leptomitacées. Le mycologue américain est d'avis de la considérer comme une famille distincte conformément à l'opinion de Schröter

(1) Thaxter. *New or peculiar aquatic fungi : ? Gonapodya and Myrioblepharis.* (Bot. Gaz., 1895, p. 477).

(in *Pflanzenfamilien*) ; ses affinités sont avec les Pythiées (*Pythium*) surtout au point de vue reproducteur, plutôt qu'avec les Saprolégniées proprement dites. On peut résumer ainsi qu'il suit les caractères de la famille et des genres qui les constituent :

LEPTOMITACÉES. — Filaments formés de segments séparés par des constrictions successives. Oogone renfermant une seule oosphère entourée de périplasma.

? *Gonapodya.*—Segments typiques courts et larges. Sporange en forme de gousse, plusieurs fois de suite prolifère. Zoospores à un cil (toujours ?). — Deux espèces : *Gonapodya silisquaeformis* (Reinsch) Thaxt. (Europe et Amérique). *Gonapodya polymorpha* Thaxt. (Amérique).

Leptomitus. — Filaments grêles, ramifiés, segments longuement cylindriques. Reproduction asexuée produite par la transformation en zoosporanges d'un segment terminal ou de plusieurs segments superposés. Oospores inconnues.

Une espèce : *Leptomitus lacteus* Ag. (Europe et Amérique).

Apodachlya. — Filaments simples ou peu ramifiés. Sporanges terminaux ou en apparence latéraux par ramification sympodiale du segment qui les porte. Sporange largement ovale ou piriforme, nettement distinct des segments. Zoospores diplanétiques, s'enkystant comme chez *Achlya*, dès la sortie du sporange (toujours ?) ; oospores inconnues.

Deux espèces : *Apodachlya pirifera* Zopf et *Apodachlya brachynema* (Hild) Prings. probablement synonymes (Amérique et Europe).

Rhipidium. — Cellule basale monstrueusement développée, distincte des nombreux filaments qu'elle produit, dilatée distalement, lobée ou ramifiée. Filament en apparence simple, mais ramifié monopodialement au-dessous des sporanges originairement terminaux. Zoosporanges généralement solitaires, ovales. Zoospores monoplanétiques, à deux cils et à nombreux granules réfringents, sortant des sporanges par masses cylindriques entourées d'une mince membrane et surmontée par la papille de déhiscence. Androgynes ou hétérogynes. Oogones sphériques, renfermant une oospore à paroi épaisse. Anthéridies étroites, s'appliquant sur la base de l'oogone, le pollinide perforant la paroi sans indentation.

Trois espèces : *R. interruptum* Cornu et *R. continuum* Cornu (Europe), *R. americanum* n. sp. (Amérique).

Araiospora. — Grande cellule basale dilatée, avec rhizoïdes à sa base, mais semblable aux segments des filaments. Filaments cylindriques ou subcylindriques, ramifiés plusieurs fois en ombelles. Zoosporanges de deux sortes (les uns lisses, les autres po-

lymorphes et épineux), naissant à l'extrémité distale des segments soit en verticille, soit en ombelle. Zoospores finalement granuleuses à deux cils, monoplanétiques, émises dans une masse entourée d'une membrane mince qui se brise immédiatement. Oogones en verticilles ou en ombelles, souvent mélangés aux Zoosporanges, comme eux séparés du segment par une constriction. Oospore solitaire, à paroi épaisse, entourée d'une *enveloppe cellulaire* née du périsplasma. Filets anthéridiaux nés de segments spéciaux, simples ou ramifiés ; les petites anthéridies arrondies s'appliquant exactement à la base de l'oogone.

Deux espèces : *A. pulchra* n. sp. (Amér.), *A. spinosa* (?) Cornu (Europe).

Sapromyces. — Cellule basale avec rhizoïdes, semblable aux filaments peu nombreux qu'elle porte à son sommet. Filaments semblables à ceux d'*Araiospora*. Zoosporanges allongés, subcylindriques ou en massue. Zoospore comme celles d'*Araiospora*. Oogones en verticilles ou en ombelles, piriformes, souvent incrustées. Oospore solitaire à paroi épaisse. Androgynes ou hétérogynes, les filaments anthéridiques naissent distalement des segments, la portion sous-anthéridiale étant enroulée sur elle-même. Anthéridies allongées, oblongues, courbes, s'appliquant sur le sommet de l'oogone par un bec qui infléchit la paroi (en formant une indentation) avant de la perforer.

Trois espèces : *S. Reinschii* (Schröter) Fritsch (Eur. et Amér.), *S. androgynus* n. sp. (Amér.), *S. elongatus* (Cornu) (Eur.).

MONOBLÉPHARIDÉES. — Cette intéressante famille, où se trouve réalisé le type le plus différencié de la reproduction sexuelle chez les champignons, n'a fait l'objet, jusqu'à ce jour, que d'un nombre très restreint de travaux. Depuis les importantes recherches de M. Cornu, qui avait étudié deux espèces du genre unique *Monoblepharis*, *M. sphaerica* et *M. polymorpha*, et signalé en passant une troisième espèce (*M. prolifera*) que Reinsch décrivit depuis sous le nom de *Saprolegnia siliquaeformis* (voir plus haut ce qui est dit du genre *Gonapodya*), personne n'avait retrouvé et étudié ces intéressants organismes.

M. Thaxter (1), qui semble s'être fait une spécialité de l'étude des champignons rares et curieux, vient de fournir un nouvel appoint à nos connaissances à ce sujet. Il reprend l'étude du genre *Monoblepharis* dont il a examiné quatre espèces : 1° *M. polymorpha* ; 2° une espèce voisine *M. sphaerica*, mais qui mûrit ses spores hors de l'oogone ; 3° et 4° deux espèces nouvelles : *M. insignis* et *fasciculata* qui, par la position de l'anthéridie, res-

(1) Thaxter. *New or peculiar aquatic fungi. Monoblepharis* (Bot. Gaz., 1895, p. 433).

semblent à *M. polymorpha*, mais mûrissent leurs oospores à l'intérieur de l'oogone, comme *M. sphaerica*.

Le protoplasma des *Monoblépharis* présente des cordons granuleux, souvent transversaux où le mouvement protoplasmique est rendu très apparent par des granules.

Les anthéridies sont terminales, les oogones intercalaires : chaque anthéridie est placée sur un oogone (pl. CCVIII, fig. 35-37).

Les anthérozoïdes, munis d'un cil à l'arrière, rampent d'abord sur la face interne de l'anthéridie, sortent par des mouvements amiboïdes, puis le cil se met brusquement à se mouvoir. Mais parfois tout le chemin, de l'anthéridie à l'oogone, est effectué par des mouvements de reptation, sans intervention du cil vibratile.

L'oogone arrive à maturité quand un tiers des anthérozoïdes sont sortis. Elle présente de forts granules centraux qui finissent par constituer l'oosphère (pl. CCXVIII, fig. 35).

La membrane de l'oogone se rompt à l'extrémité par l'effet de la turgescence, il se fait au dehors une décharge de fins granules, et parfois même de gros granules de l'oosphère, d'où la formation, à l'entrée de l'oogone, d'une masse protoplasmique cohérente, sphérique, qui a la propriété d'exercer une influence attractive sur les anthérozoïdes qui se trouvent à proximité.

Les anthérozoïdes rampent sur la paroi interne de l'oogone, on en peut trouver jusqu'à huit dans l'intérieur ; mais un seul semble se fusionner avec l'oosphère, comme l'a décrit M. Cornu (fig. 39).

Les zoosporanges ressemblent aux oogones et présentent les mêmes rapports de position avec les anthéridies.

Les zoospores, qui sont rares dans *M. insignis* et plus fréquentes dans *M. fasciculata*, sont deux fois plus grosses que les anthérozoïdes. En les colorant, on voit qu'elles sont munies de deux cils.

Dans *M. fasciculata*, M. Cornu n'a vu que des zoospores monociliées dans les espèces étudiées par lui.

Monoblepharis insignis Thaxter. (Voir planche CCXVIII, fig. 34-39).

Explication de la planche CCXVI.

Blastocladia Pringsheimii Reinsch

Fig. 1. — Un axe portant deux têtes avec des sporanges cylindriques et des filaments stériles.

Fig. 2. — Une plante où les spores persistantes dominent.

Fig. 3. — Deux spores durables, celle de gauche représentée en section optique.

Fig. 4. — Une zoospore.

Fig. 5. — Paroi d'une spore durable vue en section optique.
Fig. 6. — Paroi d'une spore durable vue de face.

Rhipidium Americanum Thaxter.

Fig. 7. — Fragment d'un spécimen ramifié portant à la fois des oogones et des sporanges.
Fig. 8. — Fragment de cellule basale avec l'origine de plusieurs filaments et totalité d'un filament, lequel porte trois sporanges dont deux sont vides.
Fig. 9. — Zoosporange dans lequel on aperçoit déjà formées les zoospores, ainsi que la papille de déhiscence.
Fig. 10. — Sporange tué au moment de sa déhiscence montrant une portion de la masse des spores, laquelle a été poussée en avant et est encore contenue dans son enveloppe ; on voit à l'extrémité la papille de déhiscence.
Fig. 11. — Sporange juste avant la rupture de l'enveloppe qui entoure la masse des spores.
Fig. 12. — Le même un instant après : l'enveloppe s'est rompue au sommet et laisse échapper les spores.
Fig. 13. — Zoospores.
Fig. 14 (Planche CCXVII). — Un oogone et une anthéridie : le périplasme est en train de former l'exospore.
Fig. 24 (Planche CCXVII). — Une anthéridie et un oogone contenant une oosphère mûre dont on aperçoit la surface alvéolée.

Explication de la planche CCXVII

Rhipidium Americanum Thaxter.

Fig. 14. — Un oogone et une anthéridie : le périplasme est en train de former l'exospore.

Araiospora pulchra Thaxter.

Fig. 15. — Segment portant un filament anthéridial et deux oogones dont l'un est vu en section optique.

Sapromyces Reinschii (Schröt.) Fritsch.

Fig. 16. — Aspect habituel d'une hyphe sporangifère.
Fig. 17. — Groupe de trois sporanges, l'un est vide, un autre (celui du milieu) n'est pas encore ouvert et le troisième (à gauche) décharge ses zoospores ; on voit un segment de l'axe courbé vers le côté droit de la figure.
Fig. 18. — Deux zoosporanges et un oogone sur lequel est appliquée une anthéridie.
Fig. 19. — Oogone avec une anthéridie non septée : l'étranglement qui réunit l'oogone à l'hyphe est rempli par un bouchon de celluline.
Fig. 20. — Oogone avec une anthéridie septée qui est appliquée sur lui.
Fig. 21. — Oogone avec deux anthéridies qui y sont appliquées : on aperçoit l'oosphère.

Araiospora pulchra Thaxter.

Fig. 22. — Aspect habituel d'une plante oosporifère.

Fig. 23. — Segment portant deux sporanges du type épineux et un sporange de la forme ordinaire ; l'un de ceux qui sont épineux émet ses zoospores et est représenté en section optique.

Fig. 15. — Segment portant un filament anthéridial et deux oogones dont l'un est vu en section optique.

Rhipidium Americanum Thaxter.

Fig. 24. — Une anthéridie et un organe contenant une oosphère mûre dont on aperçoit la surface alvéolée.

Explication de la planche CCXVIII

Sapromyces androgynus Thaxter

Fig. 25. — Aspect habituel d'une plante portant à la fois des oogones et des zoosporanges.

Fig. 26. — Oogone durant la fécondation, avant que le filament anthéridial ne se soit tordu.

Fig. 27. — Groupe de deux oogones avec des oospores mûres et des filaments anthéridiaux déjà tordus.

Gonapodya siliquaeformis (Reinsch) Thaxter.

Fig. 28. — Portion de plante montrant l'aspect habituel : quelques-uns des sporanges sont vidés et deux d'entre eux sont en train de développer une première prolifération.

Fig. 29. — Un sporange, partiellement vidé, sessile sur le segment du mycélium qui le supporte ; des zoospores rampent sur la surface intérieure de la paroi.

Fig. 30. — Zoospores montrant leur noyau et, à leur partie antérieure, l'amas de granulations.

Gonapodya polymorpha Thaxter.

Fig. 31. — Deux sporanges vidés à l'intérieur de chacun desquels se produit, par prolifération, un nouveau sporange.

Fig. 32. — Deux sporanges destinés à montrer la différence que les zoospores présentent dans leurs dimensions.

Fig. 33. — Oospore à cloison mince et anthéridie de forme arrondie, d'ordinaire persistante.

Monoblepharis insignis Thaxter.

Fig. 34. — Groupe d'hyphes fertiles portant à leur extrémité des oogones ; hyphe dont le développement se trouve arrêté, à son sommet, par une anthéridie.

Fig. 35. — Oogone et anthéridie : ni l'un ni l'autre ne s'est encore ouvert. Sous l'oogone, un second oogone commence à se développer.

Fig. 36. — Un oogone qui n'est pas encore ouvert et une anthéridie qui a déjà laissé échapper quelques-uns de ses anthérozoïdes, l'on voit deux de ceux-ci rampant à la surface de l'oogone.

Fig. 37. — Le même oogone dix minutes plus tard : l'oogone vient de s'ouvrir et a déchargé une masse de protoplasma finement granuleuse, que l'on aperçoit devant le sommet ; une autre partie du protoplasma formée de granules plus gros a pris et dessine la forme de l'oosphère. Parmi les anthérozoïdes, les uns rampent à la surface extérieure de l'oogone, les autres à la surface intérieure de l'anthéridie.

Fig. 38. Un oogone dans lequel la fécondation s'est accomplie ; au-dessous l'on voit un zoosporange dont les zoospores sont sur le point de s'échapper.

Fig. 39. — Oogone ayant déchargé deux masses de protoplasma granuleux, sur l'une desquelles rampent deux anthérozoïdes. A l'intérieur de l'oogone l'on aperçoit deux anthérozoïdes dont l'un est en train de se fusionner avec l'oosphère.

BIBLIOGRAPHIE

Marchoux. — **Le paludisme au Sénégal** (*Ann. Inst. Pasteur*, 1897, p. 640).

De cet intéressant travail, nous détacherons seulement ce qui est relatif à la biologie du parasite.

347 malades ont donné lieu à 478 observations. Le diagnostic de *malaria* a toujours été porté au microscope et l'examen du sang a constamment révélé la présence du parasite spécifique, en quantité plus ou moins grande suivant la gravité de l'accès et le moment de l'observation.

Au moment où la fièvre éclate, les hématozoaires sont en général assez rares pour qu'il soit nécessaire de les chercher avec soin ; il peut même arriver qu'on n'en rencontre point. Si l'œil n'est pas exercé à ce genre de recherches, il conviendra alors, avant de se prononcer, de prélever du sang un peu plus tard, à la fin de l'accès, par exemple.

A ce moment, ils sont quelquefois si nombreux qu'on en voit cinq, six et plus dans un même champ, et qu'un seul globule peut en contenir 2, 3 et même 4.

Les examens à l'état frais sont extrêmement difficiles, à cause de la petitesse du parasite et de sa transparence, qui ne permettent pas de le distinguer du globule non coloré. Le pigment ne peut servir de point de repère, car son absence est la règle.

Sur les préparations colorées à l'éosine et au bleu de méthylène, surtout quand on a fait agir le colorant longtemps, beaucoup de formes très jeunes passent inaperçues, parce que la substance nucléaire dont elles se composent en majeure partie prend les couleurs acides et l'éosine en particulier.

Une teinture qui m'a donné des résultats incomparablement supérieurs à toutes les autres, c'est la thionine phéniquée de Nicolle légèrement modifiée.

Voici la formule à employer :

Solution saturée de thionine dans l'alcool à 50°.	20 c.c.
Eau phéniquée à 2 °/₀........................	100 c.c.

Cette solution n'est pas immédiatement bonne, il est nécessaire de la laisser vieillir pendant quelques jours. Il faut attendre qu'il se forme un composé phéniqué de thionine ou phénate de thionine.

Après avoir étendu le sang en couche mince sur une lame, l'avoir séché, puis fixé rapidement à l'alcool-éther, on le colore pendant quelques secondes à peine. On lave et on sèche sur papier buvard. On a ainsi très rapidement une préparation sur laquelle le parasite se présente dans toutes ses phases avec une netteté extraordinaire. On peut encore augmenter le contraste en traitant le frottis coloré par l'alcool absolu qui donne au globule une teinte verte, pendant que la partie chromatique du parasite reste colorée en rouge.

C'est au milieu de l'accès que commencent à se montrer les formes jeunes.

L'hématozoaire apparaît comme une tache blanche, très réfringente, circulaire ou ovale, limitée tout au plus par une ligne violette très déliée (fig. 1). Avec un peu d'habitude, il est impossible de le confondre avec les vacuoles que produit quelquefois la dessiccation dans le plasma des globules. Celles-ci ne possèdent jamais des contours aussi nets et aussi tranchés; elles n'ont jamais cette réfringence particulière qui fait immédiatement apercevoir l'hématozoaire sur son globule. A cette période, en effet, le parasite ne semble pas être intra-globulaire.

Peu à peu cette ligne colorée qui limite l'amibe s'accuse; vers la fin de l'accès elle est très nette (fig. 2). A ce moment en un point de la périphérie apparaît un prolongement très fin, d'abord assez court et finissant par atteindre une dimension au moins égale au diamètre du parasite.

Ce prolongement est un véritable pseudopode qui permet à l'amibe de pénétrer dans le globule. En effet, à la racine de ce pseudopode, on distingue souvent la paroi globulaire sous laquelle il plonge, qui empiète sur le disque réfringent. Un peu plus tard le prolongement disparaît, mais en même temps s'éteint cet éclat particulier du parasite qui semble recouvert par l'hématie. Il arrive quelquefois de rencontrer une amibe dont une partie est incluse à l'intérieur, pendant que l'autre est encore dehors.

A partir de ce moment, l'hématozoaire évolue dans le globule qui ne paraît pas très altéré par sa présence. A l'intérieur de cette ligne colorée qui représente le cytoplasme, se montre nettement un grain chromatique, le nucléole, qui jusqu'alors passait inaperçu. La substance incolorable constitue le noyau. Le parasite ressemble assez bien à une bague avec son chaton, qui est représentée par le nucléole.

En face de celui-ci, à l'autre pôle, le cytoplasme se développe et finit par acquérir des dimensions considérables par rapport au noyau. Il paraît alors formé d'une sorte de réseau circonscrivant de petits espaces vacuolaires.

Le nucléole subit des transformations parallèles à ce développement du cytoplasme. Il se détache graduellement de la paroi et gagne le centre du noyau où il se divise en deux, puis en quatre granulations qui restent unies et prennent une forme annulaire. Cet anneau nucléolaire grandit par division des grains déjà formés et finit par atteindre l'anneau cytoplasmique. Les nucléoles jeunes gagnent la périphérie, et le cytoplasme, qui perd graduellement la faculté de se colorer, passe au centre (fig. 7 et 8).

A cet état, le parasite a atteint la phase voisine de la reproduction. Il disparait alors de la circulation générale et s'amasse dans les fins capillaires où on le retrouve dans les cas d'accès pernicieux (1). Là l'hématozoaire se divise et forme des rosettes de 8 à 12 segments (fig. 13, 14). Puis les jeunes coccidies se détachent, vont à nouveau se fixer sur les globules et rentrent dans le torrent circulatoire.

En général, le parasite parcourt tout son cycle évolutif sans fabriquer de pigment. Mais il arrive parfois que certains hématozoaires renferment de très fines granulations pigmentaires au moment de l'accroissement du cytoplasme.

Traitement. — Le parasite de la *malaria* n'est pas constamment accessible à la quinine. Tant que dure son existence intracellulaire, il ne parait pas souffrir du médicament. C'est au moment où les rosaces se rompent et où les jeunes coccidies mises en liberté sont encore accolées au globule, qui doit leur servir d'hôte, qu'on peut intervenir activement.

Il y a donc avantage à donner le médicament soit à la fin de l'apyrexie, au moment où l'hématozoaire approche de sa maturité, soit au début de l'accès. Malheureusement il arrive fréquemment dans ce cas que le remède est rejeté par un vomissement; mais il reste toujours la voie sous-cutanée par laquelle on peut intervenir à tout moment.

Bien rarement on arrive à supprimer la fièvre au premier accès. Dès qu'il y a eu quelques générations de parasites, il ne faut pas s'attendre à un résultat aussi brillant. Une dose de quinine ne protège point contre l'accès suivant quand il y a dans le sang, comme dans les fièvres continues du Sénégal, des coccidies de tous ages. Il n'y en a jamais qu'une partie d'atteintes et les autres arrivent à maturité.

Tant qu'il y a de la fièvre, on voit des hématozoaires; dès que la température est revenue à la normale, on n'en trouvé plus.

La fièvre continue paludéenne cède en trois jours, en général, quand on administre quotidiennement 1 gr. de sulfate de quinine.

Si, après la cessation de la fièvre, on supprime le médicament, la rechute se produit du douzième au quatorzième jour.

Mais, si au lieu de cesser le traitement, on le continue pendant toute la période d'apyrexie, les choses se passent différemment. Les hématozoaires apparaissent à la date où ils doivent se montrer; mais dès le début, ils se trouvent aux prises avec le médicament et ils disparaissent avant d'avoir pu provoquer la fièvre. Telle est la règle; toutefois il est plus prudent de prolonger la dose de 1 gr. de sulfate de quinine jusqu'au quinzième jour.

L'auteur pense que toute fièvre continue qui ne cède pas rapidement à la quinine n'est pas la *malaria*.

Dans la région intertropicale où le paludisme est si fréquent, on est porté à considérer toutes les affections fébriles comme des manifestations plus ou moins anormales de la malaria. C'est alors que le microscope est utile et qu'il devient d'un grand secours pour porter le diagnostic. C'est ainsi que l'auteur a pu, à Saint-Louis, démontrer que certaines fièvres jusqu'alors soignées par les sels de

(1) Dans les accès pernicieux, comateux, ce sont les hémorrhagies cérébrales puncti formes et les lésions rénales qui paraissent entraîner la mort.

quinquina n'avaient rien de commun avec la malaria, mais qu'elles étaient, au contraire, des fièvres typhoïdes. Dans quatre cas dont trois formaient la queue d'une épidémie qui venait de finir, l'auteur a pu facilement isoler le bacille d'Eberth.

Explicaion de la planche CCXIX.

Fig. 1. — Jeune hématozoaire (*corps sphérique* de Laveran).
Fig. 2. — Jeune hématozoaire poussant un pseudopode.
Fig. 3-6. — Stades successifs de développement du nucléole et du cytoplasme.
Fig. 7. — Les noyaux-fils (résultant de la division du noyau unique de l'hématozoaire) apparaissent à la périphérie de l'hématozoaire.
Fig. 8. — Les noyaux s'entourent chacun d'une membrane, il se forme ainsi des cellules disposées en rosaces.

Grimbert. — **La prophylaxie du paludisme** (*Journ. de pharm. et de chimie*, 1901, 5).

C'est au docteur Laveran que revient l'honneur d'avoir d'abord découvert l'hématozoaire du *Malaria* (protozoaire de l'ordre des Coccidies), et ensuite indiqué la cause et le mécanisme de la contagion.

En 1884, M. Manson avait montré qu'une maladie parasitaire redoutable, la filariose, était communiquée à l'homme par l'intermédiaire de certains moustiques. Laveran pensa qu'il pouvait en être de même pour le paludisme et entreprit des recherches dans ce sens. Bientôt les travaux de Manson, de Ross, de Koch, de Bigami et Dionisi et enfin de Grassi ne laissèrent aucun doute à cet égard. L'unique cause de la transmission de la fièvre intermittente était bien le moustique et le moustique seul.

Evolution de l'hématozoaire du paludisme. — Cette évolution comprend deux cycles bien distincts : un cycle endogène asexué (schizogonie) qui se passe tout entier dans le sang de l'homme ; un cycle exogène sexué (sporogonie) qui se déroule chez le moustique.

1° *Cycle endogène asexué* (*schizogonie*). — L'hématozoaire se présente d'abord sous la forme d'un petit corps amiboïde à contours irréguliers, accolé aux globules rouges ou contenu dans leur intérieur (fig. 9, 10, 11).

Bientôt le noyau du parasite se divise en un certain nombre de noyaux secondaires qui gagnent la périphérie tandis que les granulations pigmentaires se rassemblent au centre (fig. 12) ; puis le protoplasma se divise en autant de segments qu'il y a de noyaux (fig. 13), présentant ainsi l'aspect d'une rosace, d'où le nom de *corps en rosace* ou de *corps segmentés*. Chaque segment, dont le nombre peut varier de 8 à 20, porte le nom de *mérozoïte* (1). Arrivés à cette période (fig. 13), les mérozoïtes sont, par la rupture du globule sanguin, mis en liberté dans le sang, où ils ne tardent pas à

(1) Les *mérozoïtes* sont, dans chaque rosace, au nombre de 6 à 12 dans la *fièvre quarte* et au nombre de 15 à 20 dans la *fièvre tierce*.

se séparer les uns des autres (fig. 14). La masse pigmentaire, accumulée au centre du corps en rosace, tombe elle-même dans le plasma : c'est un résidu que les leucocytes absorberont et iront déposer dans la rate (1). Quant aux mérozoïtes, ils s'accolent aux globules rouges, pénètrent à leur intérieur et s'y comportent exactement de la même façon que les sporozoïtes initiaux.

Quand cette reproduction asexuée (schizogonie) s'est répétée un grand nombre de fois, les mérozoïtes, au lieu de donner naissance à de nouveaux corps en rosace, s'allongent, s'incurvent en forme de croissant et se chargent de pigment, en même temps que le protoplasma du globule rouge se résorbe et disparaît (fig. 15).

Ces *corps en croissant*, devenus libres dans le plasma sanguin, peuvent y rester indéfiniment sans modification. Ils constituent la forme enkystée, la forme de résistance du parasite. Leur activité ne se réveillera que dans un nouveau milieu, le corps du moustique.

2° *Cycle exogène sexué (sporogonie).* — Quand un moustique pique un sujet atteint de paludisme, il absorbe avec le sang des corps sphériques et des corps en croissant. Ces derniers s'arrondissent alors (fig. 16 et 17) et rien ne les distingue plus des corps sphériques. Bientôt la moitié environ émettent, en divers points de leur surface, des prolongements protoplasmiques longs et grêles terminés en bouton et doués de mouvements serpentiniformes très vifs (fig. 19). Ce sont les *corps flagellés* ou *microgamètes*. Ils sont généralement au nombre de quatre et se séparent successivement de la cellule-mère qui ne tarde pas à être résorbée. On les considère comme l'élément mâle, tandis que les corps sphériques qui n'ont point donné de corps flagellés, correspondent à l'élément femelle et portent le nom de *macrogamètes*.

Le microgamète libre (fig. 20) se porte sur un macrogamète et fusionne avec lui (fig. 21) par un acte identique à celui de la pénétration du spermatozoïde dans l'ovule. De cette fécondation résulte un nouvel individu de forme allongée et mobile, c'est le *zygote* (fig. 22). Celui-ci gagne les parois de l'estomac du moustique, s'y enkyste, sous les cellules épithéliales, et acquiert bientôt des dimensions considérables, puisque d'un diamètre initial de 6 μ il atteint jusqu'à 60 à 80 μ en 15 jours. Aussi l'estomac du moustique se montre-t-il parsemé à sa surface d'un nombre plus ou moins grand de petites saillies verrugueuses.

Le zygote enkysté augmente rapidement de volume (fig. 23, 24 et 25) et il se divise ensuite en un nombre très considérable (10,000) de petits corpuscules fusiformes ou *sporozoïtes* (fig. 25) qui s'agitent à l'intérieur du kyste. Celui-ci se rompt alors et les sporozoïtes (fig. 26) sont déversés dans la cavité générale. Delà ils s'acheminent vers le thorax, pénètrent dans les cellules des glandes salivaires et finalement tombent dans la lumière de ces dernières. On conçoit dès lors ce qui va se passer ; quand il piquera, l'insecte déversera dans la plaie en même temps que sa salive, qui empêche la coagulation du sang, une certaine quantité de sporo-

(1) Ce pigment produit l'abondance d'éléments pigmentaires dans le sang, c'est-à-dire la *mélanémie* qui est l'altération caractéristique du paludisme.

zoïtes. Ceux-ci se trouvent ainsi introduits dans le torrent circulatoire ; ils pénètrent dans les globules sanguins et l'infection paludique est réalisée.

L'hématozoaire du paludisme passe donc ainsi de l'homme au moustique pour revenir du moustique à l'homme et celà indéfiniment sans se trouver à aucun moment libre dans la nature.

Parmi les moustiques, il en existe qui sont inoffensifs au point de vue de la propagation du paludisme (ils appartiennent au genre *Culex*) et d'autres, au contraire, qui d'après les expériences de Ross et de Grassi, en sont les agents propagateurs (ils appartiennent au genre *Anopheles*). Il importe donc de connaître les caractères distinctifs de ces deux genres.

Les ailes de l'*Anopheles* sont marquées de quatre taches en forme de T qui manquent totalement sur les ailes du *Culex*.

Chez l'*Anopheles*, la trompe est accompagnée de deux palpes presque aussi longues qu'elle (pl. CCXXIII, fig. 1 et 2) ; chez le *Culex*, ces palpes sont, au contraire, très courtes. C'est du moins ce qu'on observe chez les femelles. Quant aux mâles (fig. 3 et 4) de l'un ou de l'autre genre, ils ne piquent pas l'homme, se nourrissent simplement de fruits et peuvent par conséquent être laissés de côté. On les reconnaîtra à ce que leurs palpes sont toujours plumeux. Si donc vous êtes piqué par un moustique dont la trompe est unique, vous avez affaire à un *Culex* ; si, au contraire, la trompe semble trifide, vous avez affaire à un *Anopheles*.

Les moustiques pondent leurs œufs à la surface des eaux dormantes. Ceux-ci surnagent et sont disposés de façon différente suivant les espèces. Ceux des *Culex* sont agglomérés en une seule couche formant une masse ayant l'aspect d'une petite nacelle. Ceux des *Anopheles* sont disposés en rubans de 3 à 20 œufs.

Deux jours après la ponte, la larve éclot. Elle est apode, vermiforme, annelée, à tête bien distincte. Rien n'est plus facile que de distinguer à première vue la larve du *Culex* de celle de l'*Anopheles*.

Chez la larve du *Culex* (pl. CCXXIII, fig. 6), l'extrémité postérieure est comme divisée en deux branches de longueurs inégales. La plus courte, entourée de soies natatoires disposées en éventail, correspond à l'orifice anal ; la plus longue est un tube respiratoire terminé par deux stigmates.

Chez la larve de l'*Anopheles* (fig. 5), il n'existe pas de semblables appendices. Les stigmates s'ouvrent à la face dorsale entre le dernier et l'avant-dernier anneau. Et, comme l'une ou l'autre larve ne peut respirer qu'en puisant directement dans l'atmosphère l'air qui lui est nécessaire, il en résulte que chacune, suivant sa conformation, prend dans l'eau une attitude qui la fait aisément reconnaître.

La larve de l'*Anopheles* (fig. 5) flotte à la surface de l'eau à la façon d'un fétu, elle est très légèrement submergée, sauf par un point qui correspond aux stigmates, ceux-ci étant en rapport avec l'atmosphère. Elle est là immobile et ne se déplace que rarement en glissant à reculons.

La larve du *Culex* est bien différente (fig. 6) ; elle nage dans toute la masse d'eau en exécutant d'amusantes cabrioles ; elle se plie sur elle-même, puis s'allonge brusquement, comme mue par un ressort, et la voilà projetée à travers l'eau ; elle se déplace ainsi

par saccades, d'une façon qui lui est particulière. Quand le besoin de respirer se fait sentir, elle monte en zigzaguant vers la surface, met ses stigmates en rapport avec l'atmosphère, puis reste immobile, la tête obliquement en bas, mais ce repos n'est pas de longue durée.

Les larves subissent plusieurs mues donnant naissance, vers le onzième jour, à des nymphes qui se transforment à leur tour en insectes parfaits au bout de 3 à 4 jours.

L'hématozoaire du paludisme ne se rencontre que chez l'insecte parfait ; on ne l'observe ni chez la larve ni chez la nymphe, ni chez l'insecte nouvellement éclos. Tout insecte nouvellement éclos n'ayant pas encore piqué l'homme est totalement dépourvu d'hématozoaires ; s'il pique un individu sain, il ne lui inocule pas le paludisme, il ne s'infecte qu'après avoir sucé le sang d'un individu porteur d'hématozoaires.

PROPHYLAXIE DU PALUDISME

Prophylaxie générale. — Il ne faut pas songer à s'attaquer aux insectes adultes trop difficiles à atteindre. Les fumigations diverses, les poudres insecticides, la naphtaline, le camphre, l'essence de térébenthine, etc., ont bien la propriété de les chasser, mais non de les détruire. Il est bien plus simple de s'attaquer aux œufs, aux larves ou aux nymphes. Les moyens à employer sont ou indirects ou directs.

Les moyens indirects consistent surtout à dessécher le sol ou à empêcher l'eau de s'y accumuler et par conséquent à enlever aux larves d'*Anopheles* l'élément nécessaire à leur existence :

Ce sont le drainage du sol, l'endiguement des fleuves pour empêcher les inondations périodiques, le dessèchement des marais et des étangs.

Il en est de même de la culture du sol et des plantations de pins ou d'eucalyptus qui agissent surtout en enlevant au sol une partie de l'eau qui s'y trouve. Toutefois les plantations d'eucalyptus ont rendu peu de services dans la campagne romaine. Dans les pays chauds, on pourra cultiver des filaos et des bambous, qui ont une action asséchante bien connue.

Ce qu'il faut éviter avant tout, c'est d'entretenir au voisinage des habitations, des mares, des bassins, des puisards, des tonneaux d'arrosage, etc. La larve de l'*Anopheles* se tient de préférence dans les eaux claires dormantes ou à faible courant, épurées par une vive végétation; les mares alimentées par les eaux de pluie, qui ne se dessèchent pas trop vite, constituent son séjour de prédilection. C'est dans ces eaux stagnantes que fourmillent les larves d'*Anopheles* qui aussitôt écloses envahissent la maison voisine.

Les moyens directs consistent à détruire les larves dans l'eau.

Dans les lacs ou les grands étangs, il faut préconiser l'élevage du poisson et favoriser le développement des libellules. Les poissons, en effet, vivent aux dépens d'un grand nombre de larves d'insectes. Les libellules, qui sont aquatiques pendant leur phase larvaire, se nourrissent à cette période des larves de moustiques dont elles peuvent détruire une grande quantité ; plus tard l'insecte parfait, très carnassier, fait une chasse active aux moustiques adultes.

Quand il s'agit d'une faible masse d'eau, mare, réservoir, bassin, on peut employer l'huile de pétrole en couche mince. Celle-ci forme

une barrière infranchissable entre l'air atmosphérique et l'eau. Les larves de moustiques, ne pouvant plus respirer, ne tardent pas à périr. Ce procédé est de beaucoup préférable à ceux qui consistent à faire usage de substances antiseptiques solubles.

Prophylaxie individuelle. — Voici les moyens que Grassi a employés pour protéger les individus et les habitations contre les moustiques et qui lui ont complètement réussi. Nous les empruntons au travail si documenté de M. Neveu-Lemaire.

1° *Protection des habitations.* — Il suffit de fermer toute ouverture, si petite qu'elle soit, avec un grillage en fil de fer à mailles assez fines pour que les moustiques ne puissent passer à travers. Pour les petites ouvertures et les cheminées, un grillage qui ne sera jamais déplacé, fermera complètement l'orifice. Il en sera de même pour les fenêtres dont les vitres et les volets s'ouvrent intérieurement. La question est plus difficile quand il s'agit de protéger une maison déjà construite et dont les volets sont à l'extérieur. Grassi a résolu la question de la manière suivante : il a fait placer le grillage entre les vitres et les volets. Il est donc facile d'ouvrir les fenêtres. Pour les volets, il a imaginé un procédé très simple : à la partie médiane et inférieure du grillage se trouve un orifice étroit habituellement fermé par une petite porte à ressort. Par cet orifice peuvent passer deux cordes attachées chacune à un volet et il suffit de tirer le volet au moyen de la corde pour le fermer. Pour l'ouvrir, on passe par l'orifice une tige en fer avec laquelle on pousse le volet contre le mur.

Tout passage faisant communiquer deux chambres entre elles doit être muni de deux portes, l'une en bois, qui reste généralement ouverte, surtout dans la journée, et l'autre grillagée s'adaptant exactement à l'ouverture et munie d'un ressort qui la maintient toujours fermée. Ce sont autant de barrières infranchissables pour le moustique qui serait entré accidentellement dans l'habitation. Pour la même raison, on fera bien de se servir d'un moustiquaire durant la nuit.

La porte qui fait communiquer la maison avec l'extérieur doit être organisée sur le même plan que les portes intérieures, mais il est indispensable de construire devant la maison une sorte de cage assez vaste formant vestibule. Cette cage communiquera seulement avec l'extérieur par une porte basse, munie d'une toile fine qui se tend quand on ouvre, et qui a pour but d'empêcher les *anopheles* de pénétrer de haut en bas, ce qu'ils ont l'habitude de faire. Cette porte sera également à ressort et la serrure sera construite de telle façon qu'aucune ouverture ne puisse laisser passage aux moustiques.

2° *Protection des individus à l'extérieur.* — On peut généralement sortir sans prendre aucune précaution, le matin et dans la journée. C'est surtout le soir, au moment du coucher du soleil et même pendant la nuit, qu'on entend bourdonner les *anopheles* et qu'il faut se tenir sur ses gardes. Le moyen le plus simple consiste en un voile à mailles fines, assez ample, qui s'adapte au chapeau au moyen d'un ruban élastique et tombe assez bas par derrière et sur la poitrine pour protéger la figure et le cou. On passe l'extrémité inférieure du voile sous le vêtement de façon qu'il n'y ait aucune

ouverture communiquant avec l'extérieur. Les mains sont protégées au moyen de gants de toile, de coton ou de drap suffisamment épais et garantissant complètement les poignets. Le pantalon devra aussi être fermé en bas, soit par une coulisse, soit au moyen de guêtres.

A ces moyens de protection dont l'expérience, pratiquée sur une grande échelle par la Compagnie des Chemins de fer italiens de la Méditerranée, a démontré l'efficacité, il convient d'ajouter les précautions suivantes :

Habiter de préférence les lieux élevés et se loger dans les étages supérieurs des maisons, car les *anopheles* s'élèvent peu au-dessus du sol.

Fuir, à la campagne, le voisinage des champs cultivés et des jardins qui contiennent toujours des flaques d'eau où pullulent des larves d'*anopheles*.

Eviter de sortir le soir ou pendant la nuit.

Si l'on peut choisir l'époque d'un voyage en pays lacustre, adopter le moment de la saison sèche.

Enfin, quand l'on est obligé de s'exposer directement à l'infection, prendre tous les cinq jours 1 gramme de sulfate de quinine, l'expérience ayant démontré que ce médicament avait un effet prophylactique.

Il va sans dire que le traitement par la quinine des paludiques s'impose, car un paludique est un danger pour tous ceux qui l'entourent. Les moustiques, qui s'inoculent en le piquant, peuvent à leur tour inoculer la maladie à des centaines d'individus. *R. F.*

Explication de la planche CCXIX : Hématozoaire du paludisme, fig. 9-27.

A. — *Cycle se passant dans le corps humain*, fig. 9-14.

Fig. 9. — Hématozoaire en forme de petite sphère accolée au globule sanguin.

Fig. 10. — Le même à un stade plus avancé (forme à contours irréguliers.

Fig. 11. — Id. Les grains de pigment apparaissent vers la périphérie.

Fig. 12. — Le noyau du parasite s'est divisé en un certain nombre de noyaux qui se disposent en couronne.

Fig. 13. — Chaque noyau s'entoure d'une membrane (mérozoïtes). Le pigment se réunit vers le centre.

Fig. 14. — Les mérozoïtes sont mis en liberté, ainsi que les grains pigmentaires.

Fig. 15. — Corps en croissant (forme enkystée du parasite).

B. — *Cycle se passant dans le corps de l'Anopheles*, fig. 15-27.

Fig. 16, 17 et 18. — Les *corps en croissant* s'arrondissent.

Fig. 19. — Les mêmes émettent quatre prolongements (*corps flagellés* ou *microgamètes*).

Fig. 20. — L'un de ces *corps flagellés* en liberté.

Fig. 21. — Un *microgamète* pénètre dans un *macrogamète* et va se fusionner avec lui.

Fig. 22, — *Zygote*, résultant de cette fécondation.

Fig. 23, 24 et 25. — *Zygote* en voie d'évolution.
Fig. 25. — *Zygote* mûr rempli de *sporozoïtes*.
Fig. 26. — *Sporozoïtes* libres.
Fig. 27. — Coupe de la glande salivaire d'un *anopheles* avec sporozoïtes dans les cellules.

Juel (H.-O.). — **Pyrrhosorus, eine neue marine Pilzgattung** (Bihang till K. Svenska vet. Akad. Handlingar, 1901). — **Nouveau genre de Champignon se développant sur les algues marines.**

Pyrrhosorus, nov. gen. (*sôros*, monceau ; *purrhos*, feu).

Pendant la période de végétation, c'est d'abord un plasmode qui se divise ensuite en plusieurs cellules libres, elliptiques ou fusiformes, nues, uninucléées. Les sores se composent d'un amas de cellules-fertiles (sphériques) entre-mêlées de cellules stériles (fusiformes). Les cellules fertiles (cellules-mères) sont nues, mouchetées de corpuscules orangés ; chacune d'elles se partagent, par trois divisions successives, en huit cellules sphériques qui deviennent au tant de zoospores. Ces zoospores sont piriformes, contiennent un pigment orangé et présentent, d'un seul côté, deux cils dont l'un se dirige en avant et l'autre en arrière.

P. marinus n. sp. — Cellules fertiles (cellules-mères) ayant environ 8 μ de diamètre. Zoospores 4 μ,5 de long sur 2 μ,5 de large.

Vit en saprophyte dans les rameaux d'une algue marine *Cystoclonium purpurascens* près de Christineberg (Suède).

La figure 32 représente le *Pyrrhosorus* à son stade le plus jeune. C'est une petite cellule sphérique, nue ; le noyau est très petit, le cytoplasme montre une structure réticulaire. Il n'est pas rare d'en rencontrer deux ou plusieurs accolées ensemble (fig. 33) sans doute parce qu'elles proviennent d'un même essaim de zoospores.

L'auteur pense que, par la suite, plusieurs de ces cellules se fusionnent ensemble pour constituer un plasmode ; toutefois il n'a pu à aucun stade constater ce fusionnement.

Les figures 35 et 36 représentent de ces plasmodes.

Dans la figure 37, les noyaux sont beaucoup plus petits et plus nombreux, ce que l'auteur attribue à ce que les noyaux que l'on constate dans les stades précédents ont subi plusieurs divisions.

La figure 38 représente un stade intermédiaire entre le précédent et le suivant. Le plasmode qu'elle représente remplit complètement la cellule de l'hôte, mais il présente vers son milieu une cavité, dans l'intérieur de laquelle on peut reconnaître, comme subsistant encore, quelques corpuscules du contenu de l'algue. Le plasmode s'est divisé en un grand nombre de corps de forme amiboïde dont chacun possède un noyau.

De cette division du plasmode résultent un grand nombre de cellules les unes sphériques, les autres fusiformes qui sont complètement indépendantes les unes des autres. Elles sont nues et n'ont plus rien d'amiboïde ; leur surface reste parfaitement unie. Chacune possède un petit noyau. Les cellules fusiformes restent stériles ; les cellules sphériques, au contraire, subissent trois bipartitions successives ; chacune d'elles contient ainsi huit cellules-filles qui seront autant de zoospores.

L'auteur pense que le *Tetramyxa aurantiaca* Hæckel (1) est l'organisme qui se rapproche le plus du *Pyrrhosorus*. En effet, il présente, comme ce dernier, un plasmode qui se partage directement en cellules possédant chacune un seul noyau ; ces cellules, à leur tour, subissent deux bipartitions en quatre cellules-filles qui constituent autant de spores. Toutefois l'on ignore la germination de ces dernières spores et l'on ne sait pas, par conséquent, si ce sont des zoospores. *R. F.*

EXPLICATION DE LA PLANCHE CCXIX.

Fig. 28. — Une cellule-mère isolée.

Fig. 29. — Un sore (amas) de cellules fertiles (cellules-mères) avant qu'elles se soient divisées. Les granules foncés étaient de couleur orangée.

Fig. 30. — Un sore dont les cellules-mères se sont partagées chacune en quatre cellules-filles. La tache de pigment que chacune présente n'a pas été représentée.

Fig. 31. — Zoospores. La tache foncée que chacune présente, est une tache de pigment de couleur orangée.

Fig. 32. — Une cellule de *Cystoclonium* qui contient en son centre une petite cellule qui, selon toute vraisemblance, est un jeune individu de *Pyrrhosorus*.

Fig. 33. — Deux cellules pareilles juxtaposées.

Fig. 34. — Un jeune *Pyrrhosorus* placé au centre d'une cellule de *Cystoclonium :* il consiste en une cellule nue avec un gros noyau.

Fig. 35. — Cellule à plusieurs noyaux ou, en d'autres termes, plasmode avec quelques gros noyaux.

Fig. 36. — Partie d'un plus gros plasmode avec de gros noyaux et une forme amiboïde.

Fig. 37. — Plasmode avec de nombreux petits noyaux.

Fig. 38. — Plasmode au stade de division.

Fig. 39. — Partie d'un ensemble de tubes contenant des cellules fusiformes nues, à un noyau. Au dehors des tubes de nombreux grains d'amidon appartenant au *Cystoclonium*.

Fig. 40. — Cellule de *Cystoclonium* allongée en forme d'hyphe, remplie de cellules fusiformes de *Pyrrhosorus*. Quelques-unes des cellules se transforment en cellules sphériques fertiles.

Fig. 41. — Partie d'un sore contenant des cellules fertiles (cellules-mères) et des cellules stériles.

Fig. 42. — Partie d'un sore avec des cellules stériles disposées les unes en groupe de quatre et les autres en groupe de huit.

Fig. 43. — Cellule-mère, où l'on aperçoit les chromosomes du noyau.

Fig. 44. — Cellule-mère où l'on distingue les fuseaux du noyau.

Fig. 46. — Groupe de quatre cellules-filles.

Fig. 47. — Partie d'un groupe de huit cellules-filles, destinées à former autant de zoospores

(1) Gœbel. *Tetramyxa parasitica*, Flora, an. 1884, p. 517.

Le Gérant, C. ROUMEGUÈRE.

Toulouse. — Imp. MARQUÉS et Cie, boulevard de Strasbourg, 22.